

Влияние природного антоциана на продолжительность жизни *Drosophila melanogaster* и устойчивость к ионизирующему излучению

© 2026. Д. А. Голубев^{1,2}, аспирант, м. н. с., Е. Ю. Платонова¹, м. н. с.,
Н. В. Земская¹, м. н. с., О. Г. Шевченко¹, к. б. н., с. н. с.,
М. В. Шапошников¹, к. б. н., в. н. с., П. С. Тумаева³, м. н. с.,
С. А. Патов³, к. х. н., н. с., А. А. Москалев⁴, профессор, чл.-корр. РАН, д. б. н.,

¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения
Российской академии наук,

167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

²Сыктывкарский государственный университет имени Питирима Сорокина,
167001, Россия, г. Сыктывкар, ул. Октябрьский проспект, д. 55,

³Институт химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук,
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, д. 48,

⁴Институт биологии старения и медицины здорового долголетия с клиникой превентивной
медицины ГНЦРФ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского Минобрнауки РФ,
119435, Россия, г. Москва, ул. Абрикосовский переулок, д. 2,
e-mail: golubev.d.a@ib.komisc.ru

Природные биологически активные соединения представляют собой перспективные средства для увеличения продолжительности жизни и повышения устойчивости организмов к экологическим стрессам, однако механизмы их действия остаются недостаточно изученными. В данной работе исследован геропротекторный потенциал природного антоциана цианидин-3-глюкозида (СЗГ), широко распространённого в растениях, с целью оценки его влияния на продолжительность жизни и устойчивость к стрессам у модельного организма *Drosophila melanogaster*, а также выявления молекулярных механизмов действия. Исследовали продолжительность жизни, устойчивость к γ -излучению, окислительному стрессу, уровень экспрессии генов у модельных животных, получавших СЗГ, а также его антиоксидантную активность *in vitro*. Показано, что добавка СЗГ в питательную среду в концентрации 100 мкмоль/л увеличивала медианную продолжительность жизни самцов дрозофил на 9 % ($p < 0,05$), а также повышала их устойчивость к γ -излучению до 9 % ($p < 0,001$) и окислительному стрессу на 30 % ($p < 0,01$). Установлена активация экспрессии генов антиоксидантного транскрипционного фактора *Nrf2* и фермента *prx5*. Тесты *in vitro* подтвердили способность СЗГ эффективно ингибировать перекисное окисление липидов и окисление гемоглобина. Таким образом, СЗГ проявляет выраженные геропротекторные свойства, реализующиеся, в том числе, через механизмы антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: цианидин-3-глюкозид, *Drosophila melanogaster*, продолжительность жизни, стрессоустойчивость, антиоксидантная активность.

Effect of natural anthocyanin on *Drosophila melanogaster* lifespan and resistance to ionizing radiation

© 2026. D. A. Golubev^{1,2}, ORCID: 0000-0003-0570-8211, E. Y. Platonova¹, ORCID: 0000-0002-4632-2385,
N. V. Zemskaya¹, ORCID: 0000-0002-8746-0020, O. G. Shevchenko¹, ORCID: 0000-0001-5331-3201,
M. V. Shaposhnikov¹, ORCID: 0000-0002-4625-6488, P. S. Tumaeva³, ORCID: 0009-0004-7135-1972,
S. A. Patov³, ORCID: 0000-0002-5468-989X, A. A. Moskalev⁴, ORCID: 0000-0002-3248-1633,

¹Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences,

28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

²Pitirim Sorokin Syktyvkar State University,

55, Oktyabrsky Ave., Syktyvkar, Russia, 167001,

³Institute of Chemistry of Komi Science Centre of the Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences,
48 Pervomayskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

⁴Institute of Aging Biology and Healthy Longevity Medicine with
a Preventive Medicine Clinic, Petrovsky National Research Centre of Surgery
2, Abrikosovsky Lane, Moscow, Russia, 119435,
e-mail: golubev.d.a@ib.komisc.ru

Natural bioactive compounds are considered promising agents for increasing lifespan and improving organismal resistance to environmental stressors; however, the mechanisms underlying their geroprotective effects remain insufficiently understood. In this study, we evaluated the biological activity of cyanidin-3-glucoside (C3G), a natural anthocyanin isolated from honeysuckle berries, using *Drosophila melanogaster* as a model organism. The aim of the work was to determine the effects of C3G on lifespan, resistance to γ -irradiation and oxidative stress, as well as to assess possible molecular and antioxidant mechanisms of its action. Adult flies were maintained on a standard nutrient medium supplemented with C3G at concentrations of 1, 10, and 100 $\mu\text{mol/L}$. Lifespan parameters, survival after exposure to γ -irradiation, resistance to paraquat-induced oxidative stress, and the expression of stress-response gene were analyzed. In addition, the antioxidant activity of C3G was evaluated in vitro using biochemical test systems.

Dietary supplementation with C3G at a concentration of 100 $\mu\text{mol/L}$ increased the median lifespan of male flies by 9 % ($p < 0.05$). The compound also enhanced male resistance to γ -irradiation by up to 9 % ($p < 0.001$) and increased survival under oxidative stress conditions by up to 30 % ($p < 0.01$). Gene expression analysis revealed activation of antioxidant defense mechanisms, including increased expression of the transcription factor *Nrf2* and the antioxidant enzyme *prx5*. In vitro assays confirmed that C3G inhibited lipid peroxidation, reduced reactive oxygen species formation, and protected oxyhemoglobin from oxidative damage. Thus, C3G exhibits sex-dependent geroprotective and stress-protective effects, which may be associated with both direct antioxidant activity and activation of endogenous stress-response pathways.

Keywords: cyanidin-3-glucoside, *Drosophila melanogaster*, lifespan, stress resistance, antioxidant activity.

Живые организмы существуют в тесной зависимости от факторов окружающей среды, которые могут как способствовать поддержанию физиологического равновесия, так и выступать в качестве источников стресса [1, 2]. Характеристики среды обитания, включая радиационный фон, пищевые ресурсы, температурный режим и др., способны прямо влиять на старение организма, включая продолжительность и качество жизни [3–5]. Старение представляет собой сложный биологический процесс, определяемый внутренними механизмами (генетическими, молекулярно-клеточными) и внешними причинами, связанными с воздействием окружающей среды (например, ионизирующее излучение) [6]. В последние годы особое внимание уделяется исследованию биологически активных соединений растительного происхождения, способных повышать стрессоустойчивость и замедлять процессы старения [7]. В отличие от синтетических аналогов, растительные вещества, как правило, характеризуются лучшей биодоступностью и меньшей токсичностью [8]. Более того, их получение и использование сопряжено с минимальным воздействием на окружающую среду, что делает их привлекательными не только с точки зрения биомедицины, но и с позиции устойчивого развития и экологически ответственной фармакологии [9]. Исследование таких соединений может

способствовать продлению активного долголетия и развитию подходов к профилактике старения, соответствующих концепции «зелёной химии».

В предыдущих исследованиях было установлено, что экстракты плодов жимолости Палласа (*Lonicera pallasii* L.) и барбариса обыкновенного (*Berberis vulgaris* L.) оказывают геропротекторное действие [10, 11]. Антоцианы, входящие в состав этих экстрактов, демонстрировали способность увеличивать продолжительность жизни (ПЖ) плодовых мушек *Drosophila melanogaster* и модулировать экспрессию генов, ответственных за антиоксидантную защиту [12]. Однако биологические эффекты многих антоцианов, содержащихся в ягодах жимолости, до сих пор остаются недостаточно исследованными. Одним из таких соединений является цианидин-3-глюкозид (C3G). С учётом растущего спроса на безопасные и экологически устойчивые геропротекторы, особый интерес вызывают природные соединения, способные увеличивать устойчивость к неблагоприятным факторам среды. В настоящей работе мы рассматриваем C3G не только как геропротектор, но и как природное соединение, выполняющее ключевые экологические функции. В растениях антоцианы, как и другие вторичные метаболиты, участвуют в защитных механизмах, регулируют взаимодействия с насекомыми и другими животными

и входят в сложные трофические сети экосистем. В наших экспериментах они изучаются как факторы, повышающие устойчивость модельных организмов к неблагоприятным условиям среды (γ -излучение, окислительный стресс). Исследование устойчивости организмов к абиотическим стрессорам является ключевым направлением факториальной экологии. Анализ реакций на такие факторы позволяет оценивать адаптивные возможности организма и выявлять роль природных соединений в модуляции защитных механизмов. Модель *Drosophila melanogaster* в данном контексте представляет удобную систему для изучения того, как растительные соединения (антоцианы) способны изменять интенсивность стресс-ответа и повышать устойчивость к внешним воздействиям.

Таким образом, работа связана с вопросами экологии стрессоустойчивости и адаптации живых систем к изменениям среды. Соответственно, целью настоящего исследования является оценка геропротекторного потенциала СЗГ, выделенного из ягод жимолости, путём изучения его влияния на продолжительность жизни, устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды у *D. melanogaster*, а также определения его антиоксидантной активности *in vitro*, как одного из возможных механизмов действия.

Материалы и методы исследования

Цианидин-3-глюкозид выделяли из плодов жимолости, собранных на базе «Научной коллекции живых растений» (№ 507428) Ботанического сада Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук (61°37'08.3" с. ш., 50°45'42.0" в. д.). Навеску измельчённых ягод трижды экстрагировали раствором 10 % соляной кислоты с 5 % этанолом (10:1) при 25 °С в течение суток в темноте. Экстракты объединяли, упаривали на ротаторном испарителе (35–40 °С) до сиропообразного состояния и лиофильно высушивали. Разделение экстракта проводили методом хроматографии низкого давления на колонке с сорбентом Диасорб 130С16Т, используя ступенчатое элюирование ацетонитрилом в 10 % муравьиной кислоте.

Материалом исследования служили взрослые особи *D. melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*. Мух содержали при 25 °С с режимом освещения 12 ч/сут на стандартной питательной среде, приготовленной путём растворения в 1 л воды следующих компонентов:

кукурузная мука – 92 г; сухие дрожжи – 32,1 г; агар – 5,2 г; глюкоза – 136,9 г; пропионовая кислота – 8 мл; метил-4-гидроксibenзоат – 5 мл. Для приготовления стоковых растворов СЗГ растворяли в дистиллированной воде, СЗГ добавляли на питательную среду в концентрациях 1, 10 и 100 мкмоль/л. Контрольная группа получала эквивалентный объём дистиллированной воды без добавления СЗГ. Детальный протокол эксперимента представлен ранее в работе [11].

Продолжительность жизни оценивали ежедневно, рассчитывая медианную (50 % смертность) и максимальную (90 % смертность) ПЖ. Воздействие γ -излучения (300 Гр, Cs-137, 0,74 Гр/мин) проводили на 10 день жизни имаго. Оценивали выживаемость после облучения и устойчивость мух к окислительному стрессу (паракуват, 20 ммоль/л).

Экспрессию генов антиоксидантной защиты анализировали методом qRT-PCR с использованием наборов Aurum Total RNA Mini (Bio-Rad), Quant-iT RNA Assay Kit (Invitrogen), qPCRmix-HS SYBR (Evrogen).

Антиоксидантную активность СЗГ исследовали методами *in vitro* по способности взаимодействовать с радикалами DPPH и ABTS, ингибировать инициированное перекисное окисление липидов (ПОЛ) в модельной системе на основе гомогенатов тканей (головного мозга и семенников) лабораторных животных, а также защищать эритроциты мышей в условиях окислительного гемолиза. Методологические детали приведены в работе [11].

Статистическая обработка проводилась в программах Statistica 13.3 и GraphPad Prism 8.0. Различия кривых выживаемости оценивали лог-ранговым тестом, продолжительность жизни – точным тестом Фишера с поправкой Холма – Бонферрони, другие показатели – методом Манна – Уитни и многомерным дисперсионным анализом (MANOVA). Расширенное описание применённых статистических методик приводится в ранее опубликованной работе [11].

Результаты и обсуждение

Продолжительность жизни является интегральным показателем, отражающим адаптационные способности организмов к изменениям окружающей среды [13]. Поступление в организм различных биоактивных соединений, таких как цианидин, может играть ключевую роль в формировании устойчивости популяций к экологическим факторам

и тем самым способствовать увеличению продолжительности жизни. В данном исследовании анализировалось, как различные концентрации СЗГ (1, 10, 100 мкмоль/л) в составе питательной среды влияют на ПЖ *D. melanogaster*. Показано,

что СЗГ в концентрации 100 мкмоль/л увеличивал максимальную и медианную ПЖ на 3 % у самок и на 9 % у самцов ($p < 0,05$) (табл. 1), соответственно. В остальных случаях результаты оказались недостоверны ($p > 0,05$) (табл. 1).

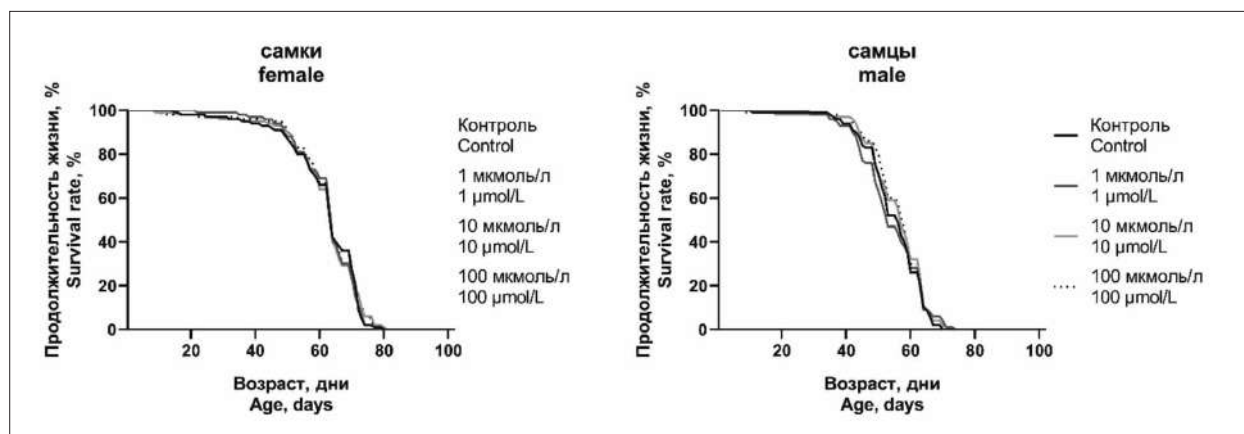


Рис. 1. Влияние цианидин-3-глюкозида (СЗГ) на продолжительность жизни *D. melanogaster*.

Примечание: здесь и на рис. 2–3: Статистическую значимость различий кривых выживаемости оценивали с использованием критерия лог-ранга. Для коррекции множественных сравнений использовали метод Холма – Бонферрони

Fig. 1. Cyanidin-3-glucoside (C3G) effect on *D. melanogaster* lifespan.

Note: here and in Fig. 2–3: Statistical significance of differences in survival curves was assessed using the log-rang test. Holm – Bonferroni correction was applied for multiple comparisons

Таблица 1 / Table 1

Влияние СЗГ на продолжительность жизни *D. melanogaster*
Cyanidin-3-glucoside (C3G) effect on *D. melanogaster* lifespan

Вариант Variant	M	dM	Точный критерий Фишера Fisher's Exact Test		90 %	d90 %	Точный критерий Фишера Fisher's Exact Test		n
			p	p ^{бонф} p ^{bonf}			p	p ^{бонф} p ^{bonf}	
Самки / Females									
Контроль Control	64	н/п n/a	н/п n/a	н/п n/a	72	н/п n/a	н/п n/a	н/п n/a	274
1 мкмоль/л / μM/L	64	0	0,6	1	73	1	0,2	1	237
10 мкмоль/л / μM/L	64	0	0,5	1	74	3	0,02	0,08	263
100 мкмоль/л / μM/L	64	0	0,9	1	74	3	0,005	0,02	260
Самцы / Males									
Контроль Control	53	н/п n/a	н/п n/a	н/п n/a	64	н/п n/a	н/п n/a	н/п n/a	265
1 мкмоль/л / μM/L	56	6	0,3	1	65	2	0,8	1	249
10 мкмоль/л / μM/L	57	7	0,1	1	65	2	1	1	277
100 мкмоль/л / μM/L	58	9	0,01	0,04	65	2	0,8	1	282

Примечание к таблицам 1–3: M – медианная продолжительность жизни; 90 % – возраст 90 % смертности (максимальная продолжительность жизни), dM и d90 % – различия между опытной и контрольной группами по медианной и максимальной продолжительности жизни, соответственно. $p^{\text{бонф}}$ – корректировка по методу Холма – Бонферрони, d90% – разница в возрасте при 90 % смертности, n – количество мух. Значимость различий в медианной и максимальной продолжительности жизни была рассчитана с помощью точного теста Фишера, н/п – не применимо.

Note to Tables 1–3: M – median lifespan; 90 % – age at 90 % mortality (maximum lifespan); dM and d90 % – differences between experimental and control groups for median and maximum lifespan, respectively; n – number of flies; p^{bonf} – p-value after Holm – Bonferroni correction. Statistical significance of differences in median and maximum lifespan was assessed using Fisher's exact test, n/a – not applicable.

Поскольку увеличение ПЖ может быть взаимосвязано с повышенной устойчивостью к стрессу, мы исследовали влияние СЗГ на устойчивость *D. melanogaster* к стрессовому фактору γ -излучению.

Ионизирующее излучение является мощным повреждающим фактором, вызывающим разрывы ДНК, усиливающим образование активных форм кислорода и существенно снижающим физиологические показатели организмов [14]. Поэтому нами была проведена оценка влияния СЗГ в концентрациях 1, 10, 100 мкмоль/л на выживаемость мух, подвергнутых действию γ -излучения в дозе

300 Гр. Результаты показывают половые различия в реакции на обработку СЗГ. У самцов СЗГ увеличивал медианную выживаемость до 9 % ($p < 0,001$) и максимальную до 6 % ($p < 0,001$) при концентрации 10 и 100 мкмоль/л (табл. 2). У самок эффекты были статистически незначимыми (табл. 2).

Помимо радиационного воздействия, мы также оценили влияние СЗГ на устойчивость мух к окислительному стрессу, индуцированному паракватом. С возрастом устойчивость организмов к экологическим факторам, включая индукторы окислительного стресса, значительно снижается [15].

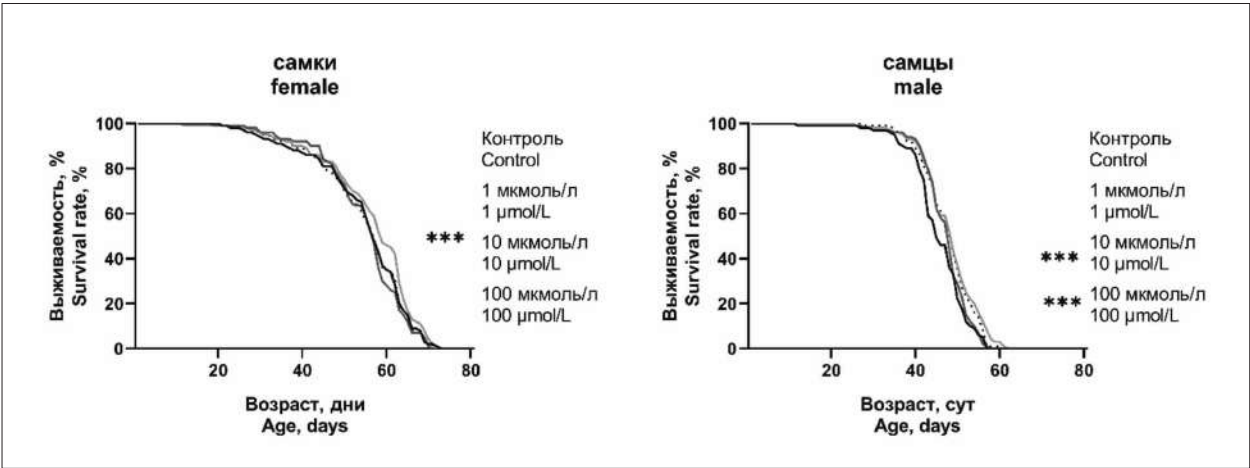


Рис. 2. Влияние СЗГ на выживаемость облучённых *D. melanogaster*. *** – $p < 0,001$
Fig. 2. C3G effect on the survival of irradiated *D. melanogaster*. *** – $p < 0.001$

Таблица 2 / Table 2

Влияние СЗГ на выживаемость *D. melanogaster* после воздействия γ -излучения
C3G effect on *D. melanogaster* survival after γ -irradiation exposure

Вариант Variant	M	dM	Точный критерий Фишера Fisher's Exact Test		90 %	d90 %	Точный критерий Фишера Fisher's Exact Test		n
			p	$p^{\text{бонф}}$ p^{bonf}			p	$p^{\text{бонф}}$ p^{bonf}	
Самки / Females									
Контроль / Control	55	н/п n/a	н/п n/a	н/п n/a	66	н/п n/a	н/п n/a	н/п n/a	262
1 мкмоль/л / $\mu\text{M/L}$	55	0	0,9	1	69	4	0,2	1	246
10 мкмоль/л / $\mu\text{M/L}$	58	5	0,04	1	69	4	0,17	1	231
100 мкмоль/л / $\mu\text{M/L}$	55	0	0,8	1	66	0	0,34	1	295
Самцы / Males									
Контроль / Control	45	н/п n/a	н/п n/a	н/п n/a	54	н/п n/a	н/п n/a	н/п n/a	348
1 мкмоль/л / $\mu\text{M/L}$	48	7	0,04	0,1	55	2	0,1	0,4	326
10 мкмоль/л / $\mu\text{M/L}$	49	9	0	0	57	6	0	0	325
100 мкмоль/л / $\mu\text{M/L}$	49	9	0	0	56	4	0,008	0,032	344

Понимание взаимодействий между стрессом и ПЖ подчёркивает сложные биологические механизмы, лежащие в основе выживания. Показано, что у самок повышение максимальной выживаемости на 21 % ($p < 0,05$) (табл. 3) наблюдалось лишь при концентрации 100 мкмоль/л СЗГ. У самцов эффект проявлялся уже при 1 мкмоль/л (увеличение на 30 %, $p < 0,01$) (табл. 3) и сохранялся при 100 мкмоль/л (26 %, $p < 0,01$) (табл. 3). При этом ни в одной из экспериментальных групп не было зафиксировано статистически значимых изменений времени медианной выживаемости (рис. 3). Отсутствие эффекта

при 10 мкмоль/л указывает на сложную, нелинейную дозозависимость.

Для выяснения молекулярных механизмов действия СЗГ была проанализирована экспрессия генов, связанных с антиоксидантным и гипоксическим ответом. Анализ транскрипции показал, что цианидин модулирует пути, связанные с окислительным и гипоксическим стрессом, причём характер ответа различается у самцов и самок, подчёркивая важность половых различий. MANOVA выявил статистически значимое влияние СЗГ на общий профиль экспрессии 6 генов (*Nrf2*, *Keap1*, *prx5*, *hif1*, *AttA*, *DptA*) ($p < 0,001$) (рис. 4).

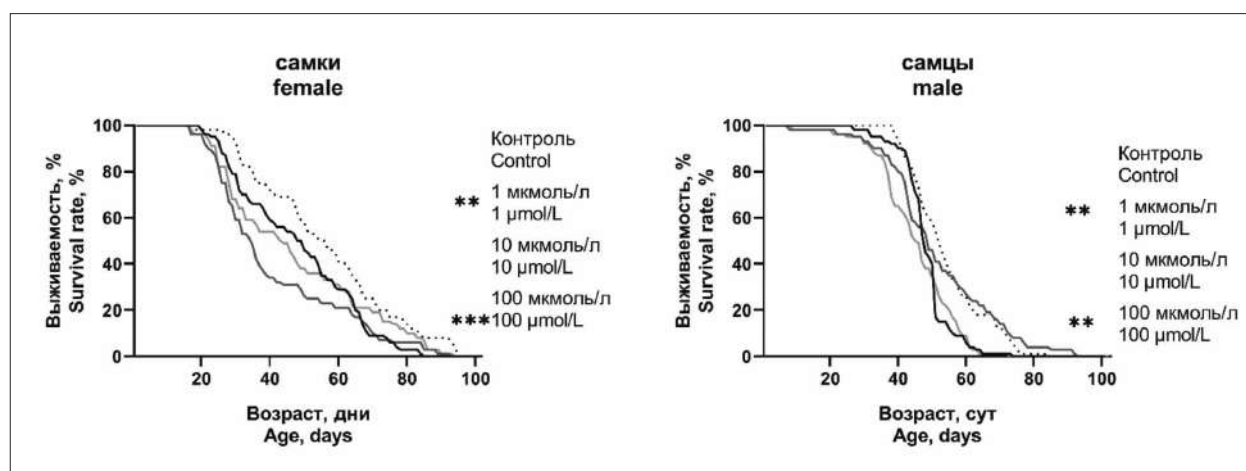


Рис. 3. Устойчивость дрозофил к окислительному стрессу после добавки СЗГ у *D. melanogaster*. ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Fig. 3. C3G-induced resistance to oxidative stress in *D. melanogaster*. ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$.

Таблица 3 / Table 3

Влияние СЗГ на стрессоустойчивость *D. melanogaster* к параквату
C3G effect on the paraquat-induced stress resistance in *D. melanogaster*

Вариант Variant	M	dM	Точный критерий Фишера Fisher's Exact Test		90 %	d90 %	Точный критерий Фишера Fisher's Exact Test		n
			p	p ^{бонф} p ^{bonf}			p	p ^{бонф} p ^{bonf}	
Самки / Females									
Контроль / Control	62	н/п n/a	н/п n/a	н/п n/a	69	н/п n/a	н/п n/a	н/п n/a	62
1 мкмоль/л / μM/L	64	3	0,01	1	71	3	1	1	64
10 мкмоль/л / μM/L	57	-8	0,36	1	83	20	0,1	1	57
100 мкмоль/л / μM/L	62	3	0,36	1	84	21	0,01	0,03	62
Самцы / Males									
Контроль / Control	64	н/п n/a	н/п n/a	н/п n/a	57	н/п n/a	н/п n/a	н/п n/a	64
1 мкмоль/л / μM/L	62	-3	0,4	1	73	30	0,002	0,006	62
10 мкмоль/л / μM/L	63	-2	0,2	1	59	3	1	1	63
100 мкмоль/л / μM/L	63	-2	0,06	1	72	26	0,002	0,006	63

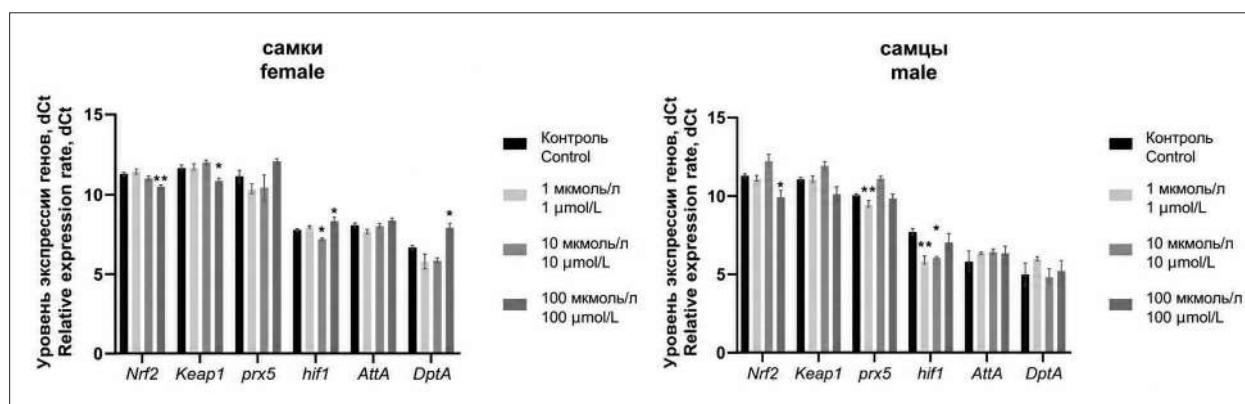


Рис. 4. Воздействие СЗГ на относительные уровни экспрессии генов, отвечающих за стресс-ответ у *D. melanogaster*. Различия в уровнях экспрессии генов, ассоциированных со старением и стресс-реакцией, между контрольной и обработанной группами оценивали с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим пост-хок тестом Тьюки (Tukey's HSD). * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$. Более высокие значения ΔCt соответствуют более низкому уровню экспрессии гена / **Fig. 4.** Effect of C3G on relative expression levels of stress-response gene in *D. melanogaster*. Differences in the gene expression associated with aging and stress responses between control and treated groups were assessed using one-way ANOVA followed by Tukey's HSD post hoc test. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$. Higher ΔCt values correspond to lower gene expression levels

Пост-хок анализ показал повышение экспрессии *Nrf2* при 100 мкмоль/л у обоих полов ($p < 0,05$) (рис. 4), что свидетельствует об активации антиоксидантного ответа. Одновременно увеличивалась экспрессия его ингибитора *Keap1* у самцов – при 10 мкмоль/л ($p < 0,01$). Экспрессия гена *prx5* у самцов увеличивалась при концентрации 10 мкмоль/л ($p < 0,01$) (рис. 4), тогда как у самок достоверных изменений не отмечено. Экспрессия *hif1* у самцов возрастала при 1 и 10 мкмоль/л ($p < 0,05$) (рис. 4), а у самок – только при 10 мкмоль/л, но снижалась при 100 мкмоль/л ($p < 0,05$) (рис. 4), указывая на дозозависимую регуляцию гипоксической сигнализации. Из антимикробных генов достоверные изменения выявлены только у самок: экспрессия *DptA* снижалась при 100 мкмоль/л ($p < 0,05$), тогда как экспрессия *AttA* не изменялась (рис. 4).

Для подтверждения молекулярных механизмов, выявленных на уровне экспрессии генов, была дополнительно проведена *in vitro* оценка антиоксидантной активности СЗГ. В концентрации 10 мкмоль/л указанное соединение проявило невысокую антирадикальную активность в тестах с DPPH и ABTS, существенно уступая в этом отношении референсным соединениям – тролоксу и кверцетину. Тем не менее, СЗГ проявлял статистически значимую антиоксидантную активность в биологически релевантных тест-системах. В частности, СЗГ статистически значимо тормозил H_2O_2 -инициированное окисление полиненасыщенных жирных кислот в субстрате, содержащем липиды семенников лабораторных

животных, снижая концентрацию вторичных продуктов ПОЛ ТБК-АП (тиобарбитурово-кислотреагирующие продукты) с $15,6 \pm 0,1$ до $11,1 \pm 0,3$ нмоль/мл ($p = 0,021$). Использование САА–RBC-теста показало, что добавление СЗГ в инкубационную среду в концентрации 10 мкМ статистически значимо снижает ($p = 0,001$) образование внутриклеточных

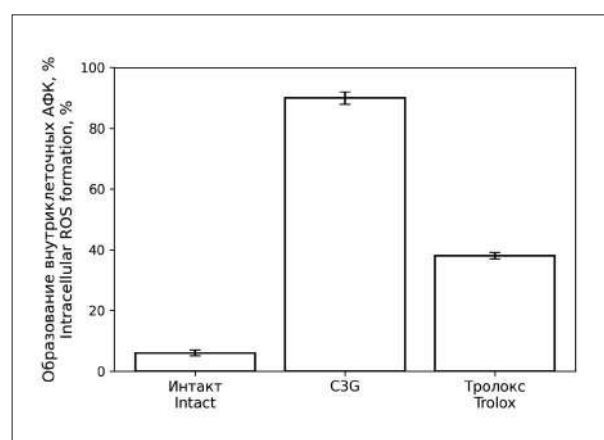


Рис. 5. Снижение ААРН-индуцированной генерации активных форм кислорода (АФК) в эритроцитах мышей под воздействием СЗГ и тролокса в концентрации 10 мкмоль/л (САА–RBC тест). Интакт – эритроциты без воздействия СЗГ и ААРН. Результаты представлены в процентах по отношению к положительному контролю (эритроциты, обработанные ААРН) / **Fig. 5.** Reduction of AAPH-induced ROS generation in mouse erythrocytes exposed to C3G and Trolox at a concentration of 10 $\mu M/L$ (CAA–RBC test). “Intact” refers to erythrocytes without C3G or AAPH exposure. Results are presented as percentages relative to the positive control (erythrocytes treated with AAPH)

Таблица 4 / Table 4

Влияние СЗГ и тролокса (1 мкмоль/л) на окисление оксигемоглобина и флуоресценцию продуктов распада гема в эритроцитах мышей в моделях H_2O_2 - и ААРН-индуцированного гемолиза / Effects of СЗГ and Trolox (1 $\mu\text{mol/L}$) on oxyhemoglobin oxidation and fluorescence of heme degradation products in mouse erythrocytes under H_2O_2 - and ААРН-induced hemolysis models

Образец Sample	Показатель / Parameter			
	Гемолиз / Hemolysis, %	metHb/oxyHb, отн. ед. / rel. units	ferrylHb/oxyHb, отн. ед. / rel. units	IF, отн. ед. / rel. units
Инициатор / Initiator – H_2O_2				
Контроль Control	1,16 $\pm$ 0,05	0,293 $\pm$ 0,008	8,5 $\pm$ 0,4	1,16 $\pm$ 0,05
СЗГ	0,772 $\pm$ 0,025	0,218 $\pm$ 0,007	4,7 $\pm$ 0,2	0,772 $\pm$ 0,025
Тролокс Trolox	0,906 $\pm$ 0,024	0,261 $\pm$ 0,004	10,5 $\pm$ 0,4	0,906 $\pm$ 0,024
Кварцетин Quercetin	0,947 $\pm$ 0,027	0,281 $\pm$ 0,006	10,7 $\pm$ 0,2	0,947 $\pm$ 0,027
Инициатор / Initiator – ААРН				
Контроль Control	1,32 $\pm$ 0,07	0,679 $\pm$ 0,033	5,72 $\pm$ 0,07	1,32 $\pm$ 0,07
СЗГ	0,988 $\pm$ 0,018	0,455 $\pm$ 0,010	3,85 $\pm$ 0,04	0,988 $\pm$ 0,018
Тролокс Trolox	1,58 $\pm$ 0,05	0,859 $\pm$ 0,016	5,58 $\pm$ 0,09	1,58 $\pm$ 0,05
Кварцетин Quercetin	0,897 $\pm$ 0,044	0,497 $\pm$ 0,015	5,88 $\pm$ 0,09	0,897 $\pm$ 0,044

Примечание: metHb/oxyHb и ferrylHb/oxyHb – соотношение метгемоглобина и феррилгемоглобина к оксигемоглобину, соответственно. IF – интенсивность флуоресценции продуктов распада. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка. СЗГ – цианидин-3-глюкозид; ААРН – 2,2-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорид.

Note: metHb/oxyHb and ferrylHb/oxyHb – the ratios of methemoglobin and ferrylhemoglobin to oxyhemoglobin, respectively. IF – the fluorescence intensity of degradation products. Data are presented as mean $\pm$ standard error. ААРН – 2,2-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride.

активных форм кислорода (АФК), стимулированного воздействием индуктора окислительного стресса – ААРН (рис. 5). На модели индуцированного гемолиза, инициированного внесением H_2O_2 либо ААРН, показано, что в концентрации 1 мкМ СЗГ хотя и не увеличивал выживаемость клеток, однако эффективно защищал оксигемоглобин от окисления до мет- и феррилгемоглобина ($p = 0,001$), а также ингибировал окисление гема ($p = 0,001$), заметно превосходя в этом отношении тролокс и кварцетин.

САА–RBC тест показал, что СЗГ (10 мкмоль/л) снижает уровень АФК при стимуляции ААРН ($p = 0,001$). При гемолизе, вызванном H_2O_2 или ААРН, СЗГ (1 мкмоль/л) не повышал выживаемость клеток, но защищал оксигемоглобин от окисления до мет- и феррилформ ($p = 0,001$) и подавлял разрушение гема (снижение IF, $p = 0,001$), превосходя тролокс и кварцетин. Таким образом, СЗГ из жимолости проявил антиоксидантные свойства в биологически релевантных моделях *in vitro*: снижал интенсивность инициированного ПОЛ в субстрате на основе гомогенатов тканей

лабораторных животных, а также ингибировал образование АФК и окисление гемоглобина в эритроцитах в условиях окислительного гемолиза.

В нашем исследовании установлено, что СЗГ может продлевать жизнь *D. melanogaster*, причём эффект преимущественно наблюдался у самцов. При концентрации 100 мкмоль/л СЗГ медианная ПЖ самцов увеличивалась на 9 % по сравнению с контролем, тогда как у самок наблюдалось увеличение максимальной ПЖ всего на 3 %. Подобный геропротекторный эффект согласуется с данными литературы. Например, добавка в питательную среду экстракта черноплодной рябины, богатого антоцианами (включая СЗГ), увеличивала среднюю ПЖ дрозофил на 18 % [16].

Полученные нами результаты исследования природного СЗГ демонстрируют, что антоциановый компонент ягод оказывает прямое геропротекторное действие, выраженность которого определяется дозой и биологическим полом животных. Кроме влияния на продолжительность жизни, СЗГ повысил устойчивость мух к острым стрессовым воз-

действиям, таким как γ -облучение и окислительный стресс, также преимущественно у самцов. В наших экспериментах самцы, содержащиеся на питательной среде с СЗГ (10 и 100 мкмоль/л), демонстрировали более высокую медианную выживаемость после воздействия облучения (300 Гр). Повышение стрессоустойчивости согласуется с известными свойствами полифенольных антиоксидантов как радиопротекторов. В частности, предварительное кратковременное добавление флавоноидов, таких как кверцетин и эпикатехин, улучшает выживаемость мух при остром γ -облучении и других видах стресса за счёт активации защитных внутриклеточных сигнальных путей [17]. Возможно, СЗГ действует сходным образом, повышая резистентность к повреждениям, вызываемым ионизирующим излучением и ПОЛ. В наших исследованиях усиление стрессоустойчивости дрозофил к воздействию острого ионизирующего излучения может быть обусловлено способностью СЗГ препятствовать чрезмерной интенсификации ПОЛ, поскольку именно активация свободно-радикальных процессов рассматривается как ключевое звено в развитии радиационных поражений организма.

Исследования молекулярных механизмов свидетельствуют о том, что СЗГ активирует антиоксидантные системы защиты, особенно у самцов. Мы обнаружили повышенную экспрессию гена транскрипционного фактора *Nrf2* и гена антиоксидантного фермента *prx5* в организме самцов после обработки СЗГ, тогда как у самок эти изменения были менее выражены. Подобный половой диморфизм может отражать различия в уровне антиоксидантной защиты. *Nrf2* известен как главный регулятор антиоксидантного ответа и ранее уже был связан с регуляцией старения и долголетия. В частности, конститутивная активация пути *Nrf2* в организме мух посредством инактивации его ингибитора *Keap1* приводит к повышению устойчивости к оксидативному стрессу и продлению жизни, преимущественно у самцов *Drosophila* [18]. Таким образом, усиление экспрессии *Nrf2* под действием СЗГ у самцов свидетельствует о вовлечении этого антиоксидантного пути в механизм действия препарата. Подобные наблюдения сделаны и в отношении пищевых антоцианов: так, добавление в рацион дрозофил экстракта клюквы не только продлевает им жизнь, но и сопровождается повышением активности антиоксидантных ферментов, например супероксиддисмутазы [19]. Кроме того, приведённое нами прямое

определение антиоксидантной активности СЗГ *in vitro* подтвердило его способность защищать биомолекулы от окислительного повреждения. Методом САА–RBC, а также на модели окислительного гемолиза эритроцитов выявлена высокая антиоксидантная активность СЗГ, что согласуется с данными литературы, касающимися антиоксидантных свойств иных цианидинов [20]. Вероятно, в организме дрозофил СЗГ реализует своё действие комбинированно: с одной стороны напрямую нейтрализует свободные радикалы, а с другой – через активацию *Nrf2*-зависимых генов усиливает антиоксидантный потенциал клеток.

Особого внимания заслуживает наблюдаемый дозозависимый эффект СЗГ и его зависимость от пола животных. Для растительных антоцианов часто характерна дозозависимая активация антиоксидантных систем организма [21]. В наших экспериментах максимальные эффекты у самцов отмечались при 100 мкмоль/л СЗГ: именно при этой дозе медианная ПЖ самцов увеличивалась на 9 %, а выживаемость после воздействия γ -излучения и окислительного стресса возрастала соответственно до 9 % и 30 %. Такие эффекты, по-видимому, обусловлены тем, что активация защитных систем организма напрямую зависит от дозы СЗГ. Мы зафиксировали регуляцию *hif1* (гипоксического фактора) под влиянием СЗГ: при концентрации 1 и 10 мкмоль/л экспрессия увеличивалась у самцов, а у самок только при 10 мкмоль/л. Требуются дальнейшие исследования для полного понимания влияния СЗГ на внутриклеточный сигнальный путь HIF-1, однако уже ясно, что эффект этого соединения на данный сигнальный путь носит дозозависимый характер.

Половой диморфизм реакции самцов и самок *D. melanogaster* на действие СЗГ, выявленный в нашей работе, согласуется с растущим числом данных о биологическом действии, степень выраженности которого зависит как от дозы СЗГ, так и от пола животных [22]. Мы наблюдали, что самцы дрозофил получают значительное преимущество от СЗГ в плане продления жизни и стрессоустойчивости, тогда как у самок эффект практически отсутствует. Причины такого различия могут быть связаны с половым диморфизмом. Возможно, самки изначально обладают более мощной системой антиоксидантной защиты и потому вследствие чего СЗГ даёт им менее выраженный геропротекторный эффект. С другой стороны, самцы, имеющие более короткую ПЖ и

меньшие затраты ресурсов на репродукцию, могли активировать дополнительные защитные пути. Подобную специфику, зависящую от пола животных, отмечали и в других работах. Например, ингибитор mTOR рапамицин продлевает жизнь самок *Drosophila*, тогда как у самцов он неэффективен [23]. В экспериментах с ограничением питания у дрозофил также показано, что эффект продления жизни гораздо более выражен у самок, чем у самцов [24]. Наши данные подчёркивают необходимость учёта половых различий при оценке геропротекторной активности соединений: очевидно, что биологический пол может влиять на эффективность активации тех или иных защитных сигнальных путей (например, *Nrf2*, аутофагии и др.), опосредующих продление жизни. Полученные нами результаты согласуются с данными литературы и позволяют предположить, что СЗГ является перспективным геропротекторным соединением с выраженными антиоксидантными и радиопротекторными свойствами. Его действие реализуется через активацию внутренних защитных механизмов (*Nrf2*-зависимых и др.) и проявляет горметические свойства, а эффективность обусловлена, помимо дозы, биологическим полом. Выявленный половой диморфизм, по-видимому, обусловлен совокупностью факторов, включая различия в базовом уровне антиоксидантной защиты, особенности метаболизма и биодоступности СЗГ, а также специфические особенности стресс-ответа у самцов и самок.

Таким образом, в условиях усиливающегося экологического стресса диетические антиоксиданты типа СЗГ представляют значительный интерес как потенциальные средства повышения устойчивости организма к неблагоприятным факторам среды, что, в конечном счёте, может способствовать сохранению здоровья и продлению жизни.

Заключение

Наше исследование демонстрирует, что природный антоцианин СЗГ способен замедлять старение модельного организма *D. melanogaster*, продлевая жизнь и повышая устойчивость к неблагоприятным экологическим факторам. Молекулярный анализ выявил, что эффект СЗГ связан с активацией путей стрессоустойчивости, включая транскрипционный фактор *Nrf2* и его таргетные гены, такие как *prx5*. Таким образом, проведённое исследование демонстрирует по-

тенциальный геропротекторный эффект природного антоциана СЗГ. Полученные результаты открывают перспективы для разработки безопасных природных геропротекторов на основе СЗГ. В дальнейшем целесообразно изучить молекулярные механизмы его действия на других модельных организмах, оценить эффективность при комбинированном воздействии стрессовых факторов и проверить возможность применения СЗГ для повышения устойчивости организмов к неблагоприятным условиям среды.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН по теме «Генетические механизмы стрессоустойчивости и контроля продолжительности жизни для поиска новых мишеней для геропротекторных вмешательств на модели *Drosophila melanogaster*» № 125013101228-2.*

Мы выражаем благодарность Центру коллективного пользования «Молекулярная биология» Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук (ИБ Коми НЦ УрО РАН) за предоставленное оборудование для анализа антиоксидантной активности, а также РНК и кДНК. Также благодарим ИБ Коми НЦ УрО РАН за предоставление мух (<https://ckp-rf.ru/catalog/usu/471927/>) и мышей (<http://www.ckp-rf.ru/usu/471933/>) из научных коллекций. Отдельную благодарность выражаем Центру коллективного пользования Института химии Коми научного центра УрО РАН (<https://chemi.komisc.ru/>) за предоставление исследуемого вещества и подтверждение его структуры с использованием высокоточного аналитического оборудования.

References

1. Sundas A., Contreras I., Mujahid O., Beneyto A., Vehi J. The effects of environmental factors on general human health: a scoping review // Healthcare. 2024. V. 12. No. 21. Article No. 2123. doi: 10.3390/healthcare12212123
2. Adamski Z., Ntalli N., Słocińska M., Scrano L. Editorial: Physiological response to environmental stressors in invertebrates // Front. Physiol. 2022. V. 13. Article No. 1002192. doi: 10.3389/fphys.2022.1002192
3. Lowry K.P., Turan E.A., Eisenberg J., Kong C.Y., Barnes J.A., Pandharipande P.V. Projected effects of radiation-induced cancers on life expectancy in patients undergoing CT surveillance for limited-stage Hodgkin lymphoma: a Markov model // Am. J. Roentgenol. 2015. V. 204. No. 6. P. 1228–1233. doi: 10.2214/ajr.14.13287

4. Manisalidis I., Stavropoulou E., Stavropoulos A., Bezirtzoglou E. Environmental and health impacts of air pollution: a review // *Front. Public Health*. 2020. V. 8. No. 20. Article No. 14. doi: 10.3389/fpubh.2020.00014
5. Myers S.S., Gaffikin L., Golden C.D., Ostfeld R.S., Redford K.H., Ricketts T.H., Turner W.R., Osofsky S.A. Human health impacts of ecosystem alteration // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013. V. 110. No. 47. P. 18753–18760. doi: 10.1073/pnas.1218656110
6. Navarro C., Salazar J., Díaz M.P., Chacin M., Santeliz R., Vera I., Marco L.D., Parra H., Bernal M.C., Castro A., Escalona D., García-Pacheco H., Bermúdez V. Intrinsic and environmental basis of aging: a narrative review // *Heliyon*. 2023. V. 9. No. 8. Article No. e18239. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e18239
7. Bilal S., Saad Jan S., Shahid M., Asaf S., Khan A.L., Lubna, Al-Rawahi A., Lee I.J., Al-Harrasi A. Novel insights into exogenous phytohormones: central regulators in the modulation of physiological, biochemical, and molecular responses in rice under metal(loid) stress // *Metabolites*. 2023. V. 13. No. 10. Article No. 1036. doi: 10.3390/metabo13101036
8. Barathi S., Ramalingam S., Krishnasamy G., Lee J. Exploring the biomedical frontiers of plant-derived nanoparticles: synthesis and biological reactions // *Pharmaceutics*. 2024. V. 16. No. 7. Article No. 923. doi: 10.3390/pharmaceutics16070923
9. Arif Z.U., Khalid M.Y., Noroozi R., Hossain M., Shi H.H., Tariq A., Ramakrishna S., Umer R. Additive manufacturing of sustainable biomaterials for biomedical applications // *Asian J. Pharm. Sci.* 2023. V. 18. No. 3. Article No. 100812. doi: 10.1016/j.ajps.2023.100812
10. Golubev D., Zemskaya N., Shevchenko O., Shaposhnikov M., Kukuman D., Patov S., Punegov V., Moskalev A. Honeysuckle extract (*Lonicera pallasii* L.) exerts antioxidant properties and extends the lifespan and healthspan of *Drosophila melanogaster* // *Biogerontology*. 2022. V. 23. No. 2. P. 215–235. doi: 10.1007/s10522-022-09954-1
11. Golubev D., Platonova E., Zemskaya N., Shevchenko O., Shaposhnikov M., Nekrasova P., Patov S., Ibragimova U., Valuisky N., Borisov A., Zhukova X., Sorokina S., Litvinov R., Moskalev A. *Berberis vulgaris* L. extract supplementation exerts regulatory effects on the lifespan and healthspan of *Drosophila* through its antioxidant activity depending on the sex // *Biogerontology*. 2024. V. 25. No. 3. P. 507–528. doi: 10.1007/s10522-023-10083-6
12. Rahman S., Mathew S., Nair P., Ramadan W.S., Vazhappilly C.G. Health benefits of cyanidin-3-glucoside as a potent modulator of Nrf2-mediated oxidative stress // *Inflammopharmacol.* 2021. V. 29. No. 4. P. 907–923. doi: 10.1007/s10787-021-00799-7
13. Omotoso O., Gladyshev V.N., Zhou X. Lifespan extension in long-lived vertebrates rooted in ecological adaptation // *Front. Cell Dev. Biol.* 2021. V. 9. Article No. 704966. doi: 10.3389/fcell.2021.704966
14. Azzam E.I., Jay-Gerin J.P., Pain D. Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury // *Cancer Lett.* 2012. V. 327. No. 1–2. P. 48–60. doi: 10.1016/j.canlet.2011.12.012
15. Dues D.J., Andrews E.K., Schaar C.E., Bergsma A.L., Senchuk M.M., Van Raamsdonk J.M. Aging causes decreased resistance to multiple stresses and a failure to activate specific stress response pathways // *Aging*. 2016. V. 8. No. 4. P. 777–795. doi: 10.18632/aging.100939
16. Jo A.R., Imm J.Y. Effects of aronia extract on lifespan and age-related oxidative stress in *Drosophila melanogaster* // *Food Sci. Biotechnol.* 2017. V. 26. No. 5. P. 1399–1406. doi: 10.1007/s10068-017-0180-5
17. Proshkina E., Lashmanova E., Dobrovolskaya E., Zemskaya N., Kudryavtseva A., Shaposhnikov M., Moskalev A. Geroprotective and radioprotective activity of quercetin, (–)-epicatechin, and ibuprofen in *Drosophila melanogaster* // *Front. Pharmacol.* 2016. V. 7. Article No. 505. doi: 10.3389/fphar.2016.00505
18. Sykiotis G.P., Bohmann D. Keap1/Nrf2 signaling regulates oxidative stress tolerance and lifespan in *Drosophila* // *Dev. Cell*. 2008. V. 14. No. 1. P. 76–85. doi: 10.1016/j.devcel.2007.12.002
19. Wang L., Li Y.M., Lei L., Liu Y., Wang X., Ma K.Y., Chen Z.Y. Cranberry anthocyanin extract prolongs lifespan of fruit flies // *Exp. Gerontol.* 2015. V. 69. P. 189–195. doi: 10.1016/j.exger.2015.06.021
20. Sadowska-Bartosz I., Bartosz G. Antioxidant activity of anthocyanins and anthocyanidins: a critical review // *Int. J. Mol. Sci.* 2024. V. 25. No. 22. Article No. 12001. doi: 10.3390/ijms252212001
21. Chen J., Sun H., Sun A., Lin Q.H., Wang Y., Tao X. Studies of the protective effect and antioxidant mechanism of blueberry anthocyanins in a CC14-induced liver injury model in mice // *Food Agric. Immunol.* 2012. V. 23. No. 4. P. 352–362. doi: 10.1080/09540105.2011.634378
22. Knufinke M., MacArthur M.R., Ewald C.Y., Mitchell S.J. Sex differences in pharmacological interventions and their effects on lifespan and healthspan outcomes: a systematic review // *Front. Aging*. 2023. V. 4. Article No. 1172789. doi: 10.3389/fragi.2023.1172789
23. Regan J.C., Lu Y.X., Ureña E., Meilenbrock R.L., Catterson J.H., Kibler D., Fröhlich J., Funk E., Partridge L. Sexual identity of enterocytes regulates autophagy to determine intestinal health, lifespan and responses to rapamycin // *Nat. Aging*. 2022. V. 2. No. 12. P. 1145–1158. doi: 10.1038/s43587-022-00308-7
24. Magwere T., Chapman T., Partridge L. Sex differences in the effect of dietary restriction on life span and mortality rates in female and male *Drosophila melanogaster* // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2004. V. 59. No. 1. P. 3–9. doi: 10.1093/gerona/59.1.b3